

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
13. Mai 2004 (13.05.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2004/039938 A2**

(51) Internationale Patentklassifikation?: C12M 1/16,  
G01N 1/31, G02B 21/32

ENTWICKLUNGS GMBH [AT/AT]; Elisabethstrasse  
84/1. Stock, A-8010 Graz (AT).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/AT2003/000324

(72) Erfinder; und

(22) Internationales Anmeldedatum:

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHNETZ, Guntram  
[AT/AT]; Kirschenweg 4/5, A-2362 Biedermannsdorf  
(AT). REDL, Heinz [AT/AT]; Windmühlgasse 7, A-1060  
Wien (AT). ZATLOUKAL, Kurt [AT/AT]; Institut für  
Pathologie, Karl-Franzens-Universität Graz, Auenbrug-  
gerplatz 25, A-8036 Graz (AT).

30. Oktober 2003 (30.10.2003)

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

A 1649/2002 31. Oktober 2002 (31.10.2002) AT

(74) Anwalt: SQNN & PARTNER; Riemergasse 14, A-1010  
Wien (AT).

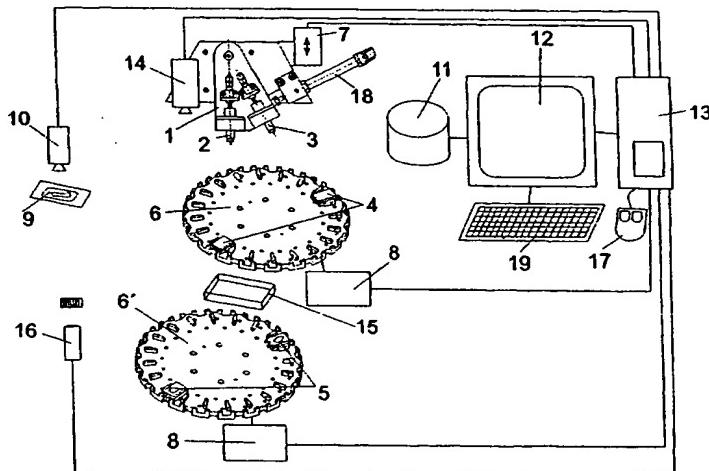
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): ORIDIS BIOMED FORSCHUNGS- UND

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM,  
AT (Gebrauchsmuster), AT, AU, AZ, BA, BB, BG,  
BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ

*[Fortsetzung auf der nächsten Seite]*

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR MANIPULATING SAMPLES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR MANIPULATION MIT PROBEN



**A2**  
**WO 2004/039938**

(57) Abstract: The invention relates to a method and a device for manipulating samples, in particular tissue samples, comprising at least one needle (3) for punching samples out of preparations (5), in particular at defined points on prepared tissue sections and a control device (13) for controlling the needle (3). The aim of the invention is to provide a method and a device, which allow a simple selection of desired punching positions on the preparations (5) and enable a rapid, simple and automatic manipulation of samples. To achieve this, the device is equipped with a camera (14) for capturing images of the surface of the preparations (5), in addition to a unit for superimposing the captured images of the preparations (5) on digital, microscopic images of sections of said preparations (5) that are stored in a memory, a display (12) for reproducing the superimposed images and a unit for applying markings to determine the defined punching positions, said unit being connected to the control device (13).

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, mit zumindest einer Nadel (3) zum Ausstechen von Proben aus Präparaten (5), insbesondere aus präparierten Ge- webeteilen an definierten Positionen und einer Steuereinrichtung (13) zum Steuern der Nadel (3). Zur Schaffung

*[Fortsetzung auf der nächsten Seite]*



(Gebrauchsmuster), CZ, DE (Gebrauchsmuster), DE, DK (Gebrauchsmuster), DK, DM, DZ, EC, EE (Gebrauchsmuster), EE, EG, ES, FI (Gebrauchsmuster), FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK (Gebrauchsmuster), SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC,

NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Erklärung gemäß Regel 4.17:**

- *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US*

**Veröffentlicht:**

- *ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts*

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("*Guidance Notes on Codes and Abbreviations*") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

## Verfahren und Vorrichtung zur Manipulation mit Proben

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, wobei aus Präparaten, insbesondere präparierten Gewebeteilen mit Hilfe von Nadeln an definierten Positionen Proben ausgestochen werden, welche Proben in freigestochene Löcher in Probenträgern eingebracht werden.

Die Erfindung betrifft weiters eine Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, mit zumindest einer Nadel zum Ausstechen von Proben aus Präparaten, insbesondere präparierten Gewebeteilen an definierten Positionen und einer Steuereinrichtung zum Steuern der Nadel.

Unter den Begriff Präparate fallen dabei insbesondere menschliche oder tierische Gewebeteile. Es können jedoch mit dem erfindungsgemäßen Verfahren und der erfindungsgemäßen Vorrichtung auch andere Stoffe bzw. Substanzen, wie z.B. eingebettete Zell- oder Bakteriensuspensionen, aber auch Pflanzen bzw. Pflanzenteile untersucht und deren Proben manipuliert werden.

Für medizinische aber auch wissenschaftliche Zwecke werden häufig biologische Gewebe von menschlichen und tierischen Organen entnommen und nach einer Reihe von Präparations- und Verarbeitungsschritten verschiedenen Untersuchungen zugeführt, um beispielsweise Krankheiten oder Gewebsveränderungen zu erkennen oder Therapieverläufe beurteilen zu können. Das entnommene Gewebe wird dabei üblicherweise in Paraffin, Kunststoff oder ein anderes vergleichbares Material eingebettet und aus diesem eingebetteten Gewebesteil eine oder mehrere gezielte Proben ausgestochen. Zu diesem Zweck werden mit Nadeln zylindrische Gewebeproben ausgestochen. Diese ausgestochenen Gewebeproben werden dann in entsprechend große ebenfalls mit Hilfe von Nadeln ausgestochene Löcher in einem Probenträger eingebracht. Der Probenträger besteht auch meist aus Paraffin, Kunststoff oder einem ähnlichen Material. Darüber hinaus sind thermoplastische Materialien zur Einbettung von Präparaten, insbesondere Gewebeteilen, aber auch zum Einbringen von Proben bekannt, welche bei Zimmertemperatur gelförmig sind und bei tiefer Temperatur, beispielsweise bei  $-10^{\circ}$ , fest werden. Mit solchen Materialien können insbesondere Gefrierproben hergestellt werden. Zum Freistechen der Löcher im Probenträger werden Nadeln verwendet, deren Außendurchmesser im Wesentlichen dem In-

- 2 -

nendurchmesser jener Nadeln entspricht, mit denen die Gewebe-  
proben aus den Gewebeteilen ausgestochen werden. Somit passt die  
ausgestochene Gewebeprobe exakt in das vorgefertigte Loch im  
Probenträger. Auf diese Weise werden sog. Gewebearrays oder Mi-  
croarrays hergestellt, welche eine große Anzahl an nebeneinander  
angeordneten Gewebeproben enthalten. Aus den so hergestellten  
Gewebeprobenanordnungen werden meistens mit Hilfe eines Micro-  
toms Schnitte angefertigt, welche histologischen oder patholo-  
gischen Untersuchungen zugeführt werden. Dabei können auf  
Probenträgern, welche beispielsweise eine Größe von 3 x 4 cm  
aufweisen, einige hundert Gewebeproben angeordnet werden.  
Dementsprechend hoch ist die resultierende Anzahl von Einzel-  
proben, die nach der Herstellung der Schnitte resultieren und  
ausgewertet werden müssen. Aufgrund der enormen Mengen an Gewe-  
beproben sollte die Manipulation mit den Gewebeproben möglichst  
rasch und automatisiert erfolgen. Zu diesem Zweck wurden Vor-  
richtungen zum Manipulieren mit Gewebeproben geschaffen, mit  
Hilfe derer solche Gewebeanordnungen möglichst rasch und mit  
möglichst hoher Genauigkeit hergestellt werden können.

Beispielsweise beschreibt die US 6 103 518 A eine Vorrich-  
tung zur Manipulation mit Gewebeproben der gegenständlichen Art,  
bei der mit einer Nadel Löcher in Probenträgern freigestochen  
werden und mit einer weiteren Nadel Gewebeproben aus präpa-  
rierten Gewebeteilen ausgestochen werden, welche Gewebeproben in  
die freigestochenen Löcher in den Probenträgern eingebracht  
werden. Jene Stellen an den Gewebeteilen, an welchen Gewebe-  
proben ausgestochen werden sollen, werden dabei in der Regel ma-  
nuell ausgewählt, was den Manipulationsvorgang wesentlich  
verlangsamt. Darüber hinaus wird die Auswahl jener Stellen an  
den Gewebeteilen, an welchen Gewebeproben ausgestochen werden,  
meist nur unter optischer Kontrolle durch medizinisches Fachper-  
sonal durchgeführt. Dabei können Gewebeschnitte der Gewebeteile  
zur Unterstützung der Auswahl der Ausschnittpositionen herangezo-  
gen werden.

Die DE 198 15 400 A1 betrifft eine Vorrichtung und ein  
Verfahren zur Probenaufnahme aus polymeren Trägermaterialien,  
bei der mit einer Vielzahl von Trennwerkzeugen, beispielsweise  
Stechkapillaren die separat ansteuerbar sind, Proben hinterein-  
ander ausgestochen und danach gleichzeitig auf ein Zielsubstrat  
abgelegt werden können. Die Vorrichtung ermöglicht die gleich-

zeitige Verarbeitung einer größeren Anzahl von Proben. Weiters wird die Kombination der Probenaufnahme-Vorrichtung mit einem Bildaufnahmesystem beschrieben, durch welches eine Automatisierung und Beschleunigung des Probenaufnahmevergangs möglich wird. Durch das Bild der Oberfläche des Präparats oder dergl. aus dem die Proben gestochen werden, kann die Auswahl der gewünschten Stechpositionen unterstützt werden.

Zur Unterstützung der Auswahl der gewünschten Ausstechpositionen an den Präparaten werden häufig von den Präparaten Schnitte und makroskopische Aufnahmen gemacht, die zur Auswahl der Ausstechpositionen vom jeweiligen Fachpersonal herangezogen werden. Dabei liefern derartige makroskopische Bilder nur geringe zusätzliche Information zu den Präparaten selbst.

Das Ziel der vorliegenden Erfindung besteht daher in der Schaffung eines Verfahrens zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben der oben angegebenen Art, welches eine möglichst rasche Auswahl der gewünschten Ausstechpositionen ermöglicht und möglichst einfach und rasch durchführbar ist. Darüber hinaus sollen mit dem erfindungsgemäßen Verfahren Proben hergestellt werden können, die möglichst hohe Qualität und Spezifität aufweisen.

Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht in der Schaffung einer Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben der angegebenen Art, welche eine möglichst einfache Auswahl und Definition der gewünschten Ausstechpositionen an den Präparaten zulässt und welche eine automatische oder teilautomatische Manipulation zulässt. Darüber hinaus soll die Vorrichtung möglichst einfach und kostengünstig aufgebaut und möglichst wartungsfrei sein. Weiters soll die Vorrichtung für eine Manipulation einer großen Anzahl von Proben geeignet sein. Nachteile des Standes der Technik sollen vermieden oder zumindest reduziert werden.

Gelöst wird die erste erfindungsgemäße Aufgabe dadurch, dass zumindest ein digitales, mikroskopisches Bild eines Schnitts eines Präparats mit einem Bild der Oberfläche dieses Präparats überlagert wird, und dass auf dem überlagerten Bild Markierungen gesetzt werden, welche die gewünschten Positionen definieren, an welchen die Proben automatisch ausgestochen und in die Löcher der Probenträger eingebracht werden. Die Überlagerung zumindest eines digitalen, mikroskopischen Schnittbildes des Präparats

- 4 -

erleichtert die Auswahl der optimalen Ausstechpositionen am Präparat und erhöht somit die Qualität der resultierenden Proben und in der Folge auch die Qualität der Diagnose bzw. des Untersuchungsergebnisses. Durch das Setzen von Markierungen an den gewünschten Ausstechpositionen müssen die Proben nicht sofort nach Auswahl einer bestimmten Position ausgestochen werden, sondern können diese nach Setzen aller Markierungen in einem automatischen Vorgang ausgestochen werden. Durch das Vorhandensein von mikroskopischen Schnittbildern des jeweiligen Präparats resultiert eine detaillierte Information für das jeweilige Fachpersonal, welches die gewünschten Ausstechpositionen auswählt.

Da das Gesichtsfeld eines Mikroskops bei entsprechender Vergrößerung zu gering ist, um den gesamten Schnitt eines Präparats darzustellen, können die digitalen, mikroskopischen Bilder auch in Segmente aufgeteilt werden, welche vor der Überlagerung mit dem Bild der Oberfläche der Präparate zusammengesetzt werden.

Um die Qualität der resultierenden Proben durch optimale Information über das Präparat noch weiter zu erhöhen, ist vorgesehen, dass die digitalen, mikroskopischen Bilder der Schnitte der Präparate oder deren Segmente entzerrt oder von Artefakten befreit wird bzw. werden.

Um einen Ausstechvorgang nach dem Setzen aller Markierungen zu ermöglichen, werden die Markierungen bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat in einer Datenbank gespeichert. Dadurch kann eine große Anzahl von Präparaten entsprechend bearbeitet und können Markierungen auf den Präparaten gesetzt werden und nachträglich in einem raschen automatischen Vorgang die entsprechenden Proben aus den Präparaten ausgestochen und in entsprechende Probenträger eingebracht werden, die danach den jeweiligen weiteren Untersuchungen zugeführt werden. Die Kennung für das Präparat kann beispielsweise durch einen am Präparat bzw. dem das Präparat umgebenden Paraffinblock angebrachten Barcode oder dergl. gebildet sein.

Um die Auswahl der Ausstechpositionen noch mehr zu unterstützen, können für jedes Präparat mehrere digitale, mikroskopische Schnittbilder ausgewählt werden. Diese Schnittbilder, welche vor dem Manipulationsverfahren aufgenommen wurden, werden dabei ebenfalls zusammen mit der Kennung für das Präparat in einer entsprechenden Datenbank gespeichert.

- 5 -

Zum leichteren Setzen der Markierungen an den gewünschten Aussteckpositionen kann der Darstellungsmaßstab der Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden. Somit kann das medizinische Fachpersonal die interessierenden Bereiche vergrößern bzw. sich durch entsprechende Verkleinerungen des Darstellungsmaßstabes einen Gesamtüberblick verschaffen.

Eine Vereinfachung des gegenständlichen Verfahrens wird auch dadurch erzielt, dass die Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verschoben und in ihrer Farbe verändert werden können. Durch Veränderung der Farbe können bestimmte Effekte erzielt werden, welche eine Beurteilung der Schnittbilder aber auch Oberflächenbilder bzw. Überlagerungsbilder erleichtern.

Zur optimalen Darstellung der Überlagerungsbilder kann gemäß einem weiteren Verfahrensmerkmal der Durchscheingrad der Oberflächenbilder in Bezug auf die Schnittbilder verändert werden. Dieser sog. Alphawert gibt an, wie stark das Oberflächenbild des Präparats im Vergleich zum digitalen, mikroskopischen Schnittbild des Präparats durchscheinen soll.

Weiters kann die Transparenz der Schnittbilder verändert werden, um eine optimale Darstellung der Überlagerungsbilder zu ermöglichen.

Um dem medizinischen Fachpersonal eine Information zum jeweiligen Präparat zukommen zu lassen, kann eine einer Kennung für das Präparat zugeordnete Patienteninformation oder dergl. zusammen mit dem Überlagerungsbild angezeigt werden. Diese Patienteninformation oder dergl. ist vorteilhafterweise ebenfalls in einer Datenbank gespeichert und wird zur Unterstützung des Vorgangs der Auswahl der Aussteckpositionen beispielsweise am Bildschirm angezeigt.

Die gesetzten Markierungen können entsprechend gekennzeichnet werden, was beispielsweise durch eine fortlaufende Nummerierung erfolgen kann. Dadurch wird eine eindeutige Identifikation aller Markierungen möglich.

Um eine Auswahl von Aussteckpositionen auch wieder rückgängig machen zu können, können gesetzte Markierungen selektiert und gelöscht werden.

Um bereits ausgewählte Aussteckpositionen korrigieren zu können, ist es von Vorteil, wenn gesetzte Markierungen

zur Überlagerung der Oberflächenbilder mit den mikroskopischen Schnittbildern, kann die Auswahl der gewünschten Ausstechpositionen unterstützt und beschleunigt werden. Dabei wird die Einrichtung zur Überlagerung der Bilder vorzugsweise durch einen Rechner gebildet. Nach der Festlegung der definierten Ausstechpositionen können die entsprechenden Steuereinrichtungen zum Steuern der Ausstechnadel entsprechend angesteuert werden, wodurch eine automatische Manipulation mit den Proben resultiert.

Da mikroskopische Bilder, die detaillierte Informationen über spezifische und fokale Veränderungen des Präparats, insbesondere Gewebsveränderungen, beinhalten, eine entsprechend hohe mikroskopische Vergrößerung benötigen, kann, aufgrund des eingeschränkten Bildausschnittes digitaler, mikroskopischer Bilder, in der Regel nicht ein gesamtes Präparat bei Erhaltung der mikroskopischen Detailinformation in einem Bild dargestellt werden. Dies erfordert die Darstellung eines Präparats in mehreren Segmenten, welche jeweils mit dem Bild des Paraffinblocks überlagert werden können. Darüber hinaus kann eine Einrichtung zum Zusammensetzen der digitalen, mikroskopischen Bilder aus mehreren Segmenten vorgesehen sein. Diese Einrichtung kann ebenfalls durch den bereits oben genannten Rechner bzw. einen gesonderten Rechner oder dergl. gebildet sein.

Durch die Überlagerung mehrerer Bildsegmente, die unabhängig voneinander positioniert werden können, ist es auch möglich, Verzerrungsartefakte, die bei der Herstellung histologischer Schnitte entstehen können, auszugleichen.

Üblicherweise ist zumindest eine Nadel zum Freistechen von Löchern in Probenträgern, in welche die ausgestochenen Proben eingebbracht werden, vorgesehen.

Vorteilhafterweise ist eine Datenbank zum Speichern der Markierungen bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat und allenfalls einer Patienteninformation oder dergl. vorgesehen. Diese Datenbank kann beispielsweise in einem Rechner, der bereits die Einrichtung zur Überlagerung der Bilder repräsentiert, integriert sein, aber auch extern angeordnet sein und mit entsprechenden Datenleitungen mit der Rechnereinrichtung oder dergl. verbunden sein.

Um eine optimale Auswahl der gewünschten Ausstechpositionen zu erzielen, können Einrichtungen zur Änderung des Darstellungsmaßstabes, zur Änderung der Orientierung, zur Verschiebung oder

zur Änderung der Farbe der Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen sein.

Um das Überlagerungsbild optimal einrichten zu können und somit die Präparate entsprechend beurteilen zu können, können Einrichtungen zur Änderung des Durchscheingrads der Oberflächenbilder in Bezug auf die mikroskopischen Schnittbilder und Einrichtungen zur Änderung der Transparenz der mikroskopischen Schnittbilder vorgesehen sein. Üblicherweise werden die oben genannten Einrichtungen durch einen entsprechenden Rechner gebildet.

Die Einrichtung zum Setzen von Markierungen zur Festlegung der definierten Ausstechpositionen kann durch eine Computermaus gebildet sein.

Um eine hohe Qualität und Spezifität der Mikroarrays und somit eine hohe Qualität der resultierenden Messungen an den Proben zu erzielen, kann eine Einrichtung zur Detektion der Position der Oberfläche der Probenträger und bzw. oder Präparate vorgesehen sein. Durch die Feststellung der exakten Position der Oberfläche der Probenträger und Präparate werden die Löcher in den Probenträgern bzw. die Proben immer exakt mit der definierten Stechtiefe ausgestochen.

Dabei ist ein Speicher für die detektierten Positionswerte der Probenträger bzw. Präparate zusammen mit einer Kennung dieser Probenträger bzw. Präparate von Vorteil. Dieser Speicher kann Teil der oben genannten Datenbank sein.

Vorteilhafterweise sind zumindest eine Freistechnadel und zumindest eine Ausstechnadel auf einem gemeinsamen Schwenkkopf montiert, welcher über einen vorzugsweise pneumatischen Schwenkantrieb betätigbar ist. Dabei schneiden die Achse der Freistechnadel und der Ausstechnadel einander im Schwenkpunkt des Schwenkkopfes. Somit kann ein Wechsel zwischen Freistechnadel und Ausstechnadel durch einfaches Schwenken des Schwenkkopfes erzielt werden. Weiters muss lediglich eine Antriebseinrichtung für den Schwenkkopf und müssen nicht mehrere Antriebseinrichtungen für jede Nadel vorgesehen werden.

Weiters ist eine Antriebseinrichtung zum Verschieben des Schwenkkopfes gegenüber den Probenträgern bzw. Präparaten vorgesehen. Diese kann entweder im Schwenkkopf oder in der Unterlage oder den Unterlagen für die Probenträger bzw. Präparate angeordnet sein, so dass eine Verschiebung des Schwenkkopfes

- 10 -

bzw. der Nadeln gegenüber den Probenträgern bzw. Präparate erzielbar ist. Auch diese Antriebseinrichtung ist vorzugsweise pneumatisch ausgeführt.

Zur Lösung der erfindungsgemäßen Aufgaben dient auch ein Computerprogrammprodukt, das direkt in den internen Speicher eines digitalen Computers geladen werden kann und Softwarecodeabschnitte umfasst, wobei mit dem Computer die Schritte des oben beschriebenen Verfahrens abgearbeitet werden, wenn das Produkt auf dem Computer läuft.

Dabei ist das Computerprogrammprodukt vorzugsweise auf einem computerlesbaren Medium gespeichert.

Die vorliegende Erfindung wird anhand von Zeichnungen, welche das Prinzip und Ausführungsbeispiele der Erfindung zeigen, näher erläutert.

Darin zeigen

Fig. 1 eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben;

Fig. 2 ein schematisches Blockschaltbild einer Vorrichtung zur Manipulation mit Proben;

Fig. 3 ein Flussdiagramm zur Veranschaulichung des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Manipulation mit Proben; und

Fig. 4 eine Draufsicht auf eine Ausführungsform eines mit mehreren Proben bestückten Probenträgers.

Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben. Dabei sind auf einem Schwenkkopf 1 eine Nadel 2 zum Ausstechen von Löchern in Probenträgern 4 und eine Nadel 3 zum Ausstechen von Proben, insbesondere Gewebeproben aus Präparaten 5 angeordnet. Präparate 5 können biologische oder tierische Gewebeteile aber auch andere Proben, wie z.B. Pflanzen oder Pflanzenteile, Zellsuspensionen oder Bakteriensuspensionen, sein. Der Schwenkkopf 1 ist gegenüber einer Unterlage 6, auf der die Probenträger 4, und einer Unterlage 6', auf der die Präparate 5 platziert sind, verschiebbar angeordnet, so dass die Nadeln 2, 3 in die Probenträger 4 bzw. Präparate 5 eingestochen werden können. Dabei kann eine Antriebseinrichtung 7 zur Verschiebung des Schwenkkopfes 1 und bzw. oder eine Antriebseinrichtung (nicht dargestellt) zur Verschiebung der Unterlagen 6, 6' vorgesehen sein. Die Unterlagen 6, 6' sind in der dargestellten Ausführungsform kreisförmig gestaltet und nebeneinander angeordnet, so

dass die Wege des Schwenkkopfes 1 vom jeweiligen Präparat 5 zum gewünschten Probenträger 4 minimal sind. Zur Anordnung der Probenträger 4 bzw. Präparate 5 sind an den Unterlagen 6, 6' entsprechende Halterungen (nicht dargestellt) für die Aufnahme der Probenträger 4 bzw. Präparate 5 vorgesehen. Durch Drehung der Unterlagen 6, 6' mit entsprechenden Antriebseinrichtungen 8 kann eine Auswahl der gewünschten Präparate 5 bzw. Probenträger 4 getroffen werden. Zwischen den Unterlagen 6, 6' für die Probenträger 4 bzw. Präparate 5 kann ein Behälter 15 zur Aufnahme des ausgestoßenen Materials der Probenträger 4 bzw. zur Reinigung der Nadeln 2, 3 vorgesehen sein. Üblicherweise sind die Probenträger 4 und Präparate 5 mit einer eindeutigen Kennung, beispielsweise einem Barcode, versehen, der mit einem entsprechenden Scanner 16 eingelesen werden kann. Die Nadeln 2, 3 sind so am Schwenkkopf 1 angeordnet, dass deren Achsen einander exakt im Schwenkpunkt des Schwenkkopfes 1 schneiden. Damit wird gewährleistet, dass die Freistechnadel 2 und die Ausstechnadel 3 nach einem Schwenkvorgang immer exakt an der selben Position zu liegen kommt. Zum Verschwenken des Schwenkkopfes 1 dient ein vorzugsweise pneumatisch betätigbarer Schwenkantrieb 18. Dieser Schwenkantrieb 18 sowie die Antriebs-einheiten 7, 8 sind mit einer Steuereinrichtung, welche bei-spieleweise durch einen Rechner 13 gebildet sein kann, verbunden. Von jedem Präparat 5 werden Schnitte 9 angefertigt, welche mit einer Mikroskopkamera 10 aufgenommen werden. Die auf-genommenen digitalen, mikroskopischen Schnittbilder werden in einem mit dem Rechner 13 verbundenen Speicher 11 abgelegt. Die Oberfläche der Präparate 5 wird mit Hilfe einer Kamera 14 aufge-nommen und an einer Anzeige 12 dargestellt. Erfindungsgemäß werden die mit Hilfe der Kamera 14 aufgenommenen Oberflächen-bilder der Präparate 5 mit ausgewählten Schnittbildern der selben Präparate 5 überlagert und an der Anzeige 12 dargestellt. Nachdem das medizinische Fachpersonal die entsprechenden Schnittbilder und Oberflächenbilder exakt in Deckung gebracht hat, können am Überlagerungsbild Markierungen gesetzt werden, welche den gewünschten Ausstechnpositionen der Ausstechnadeln 3 entsprechen. Zu diesem Zweck kann beispielsweise mit einer Computermaus 17 eine entsprechende Markierung auf dem Monitor 12 gesetzt werden. Die Überlagerungsbilder können mit Hilfe des Rechners 13, beispielsweise hinsichtlich des Darstellungsmaß-

stabes, der Lage, der Farbe usw., verändert werden. Die gesetzten Markierungen können nachträglich selektiert und wieder gelöscht bzw. verschoben werden und zusätzlich Kommentare zu den Markierungen über die Tastatur 19 eingegeben werden. Die Kommentare werden zusammen mit den Positionen für die Markierungen in einem Speicher 11 abgelegt. Zusätzlich können für die gewählten Aussteckpositionen für die Proben auch bestimmte Probenträger 4 zugeordnet werden, in welche die Proben eingebracht werden. Dabei können sogar bestimmte Löcher in den Probenträgern 4 für die jeweilige Probe ausgewählt werden. All diese Daten werden im Speicher 11 bzw. in einem anderen mit dem Rechner 13 verbundenen Speicher abgelegt.

Fig. 2 zeigt ein vereinfachtes Blockschaltbild der Vorrichtung zur Manipulation mit Proben bestehend aus einem Rechner 13, der mit einer Anzeige 12 verbunden ist. Weiters ist der Rechner 13 mit einer Mikroskopkamera 10 zur Aufnahme von digitalen, mikroskopischen Schnittbildern 9 der Präparate 5 sowie einer Kamera 14 zur Aufnahme der Oberflächenbilder der Präparate 5 verbunden. Nach dem Setzen der entsprechenden Markierungen für die Aussteckpositionen wird ein automatischer Ausstechvorgang gestartet und der Schwenkkopf 1, die Drehtische 6, 6' sowie die Antriebseinheiten 7, 8 sowie der Schwenkantrieb 18 des Schwenkkopfes 1 vom Rechner 13 entsprechend angesteuert. Auf diese Weise kann eine große Anzahl von Proben automatisch verarbeitet und in entsprechenden Probenträgern angeordnet werden.

Fig. 3 zeigt ein Flussdiagramm zur Veranschaulichung des Ablaufs des erfindungsgemäßen Verfahrens. Nach dem Start gemäß Block 100 wird die Kennung des ersten Probenträgers 4 entsprechend Schritt 101 eingelesen. Dies erfolgt beispielsweise mit einem entsprechenden Scanner, der den am Probenträger 4 angeordneten Barcode einliest. Entsprechend Abfrage 102 wird nachgesehen, ob ein weiterer Probenträger 4 vorgesehen ist. Der Vorgang 101 wird so oft wiederholt bis alle Probenträger 4 registriert wurden. Entsprechend Block 103 wird die Höhe des ersten Probenträgers 4 ermittelt. Solange entsprechend der Abfrage 104 weitere Probenträger 4 vorhanden sind, wird der Schritt 103 wiederholt und die Höhe aller Probenträger 4 ermittelt. Gemäß Block 105 wird die Größe jedes Probenträgers 4 festgelegt, in dem die Anzahl der im Probenträger 4 vorgesehenen Proben festgelegt wird. Entsprechend Abfrage 106 wird Block 105 für alle

Probenträger 4 wiederholt. Gemäß Block 107 wird die Kennung des ersten Präparats 5 eingelesen. Entsprechend Block 108 wird ein Oberflächenbild des Präparats 5 angefertigt und an einer Anzeige dargestellt. Gemäß Block 109 wird aus einem Speicher ein bestimmtes Mikroskopbild dieses Präparats 5 ausgewählt und mit dem im Block 108 aufgenommenen Oberflächenbild überlagert. Gemäß Block 110 wird beispielsweise unter Zuhilfenahme einer Computermaus eine Markierung gesetzt, an der eine Probe aus dem Präparat 5 ausgestochen werden soll. Gemäß Abfrage 111 wird abgefragt, ob weitere Markierungen gesetzt werden sollen, in welchem Fall Block 110 entsprechend oft wiederholt wird. Gemäß Block 112 wird der für die Proben des Präparats 5 gewünschte Probenträger ausgewählt und den gesetzten Markierungen zugeordnet. Die Schritte gemäß 107 bis 112 werden für alle vorhandenen Präparate 5 entsprechend wiederholt. Dazu wird gemäß Abfrage 113 das nächste Präparat 5 erfragt. Wurde das letzte Präparat bearbeitet und alle Markierungen gesetzt, wird gemäß Block 114 der Ausstechvorgang gestartet. Wenn alle Proben aller Präparate 5 in den entsprechenden Probenträgern 4 angeordnet wurden, wird der Vorgang entsprechend Block 115 beendet. Dieses Flussdiagramm zeigt nur die Hauptkomponenten des erfundungsgemäßen Verfahrens, Verfahrensschritte zur Bearbeitung der Überlagerungsbilder zum Verändern der Markierungen und zum Beeinflussen des Ausstechvorgangs wurden nicht berücksichtigt.

Fig. 4 zeigt eine Draufsicht auf einen Probenträger 4 mit insgesamt 487 Positionen für Löcher 20 zur Aufnahme von 487 Proben. Dabei sind die Löcher 20 in einem Muster angeordnet, welches eine eindeutige Zuordnung der Proben auch nach der Herstellung von Schnitten zulässt. Im dargestellten Beispiel sind mit einem Teil der Löcher 20 die Spalten binär codiert. Somit ist es nach den Schnitten nicht möglich die Proben durch Umdrehen des Glasträgers oder Verdrehen des Glasträgers zu verwechseln. Natürlich gibt es verschiedene andere Möglichkeiten derartig eindeutige Zuordnungen zu erzielen.

Die vorliegende Erfindung bietet zur Unterstützung der Auswahl der Ausstechpositionen an den Präparaten die Information von Mikroskopbildern an und erlaubt zusätzlich einen Rückschluss der Proben auf die Ausstechpositionen auf dem Mikroskopbild, und somit eine bessere Dokumentation und eine Qualitätskontrolle des gesamten Vorgangs.

## Patentansprüche:

1. Verfahren zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebe-proben, wobei aus Präparaten, insbesondere präparierten Gewebe-teilen mit Hilfe von Nadeln an definierten Positionen Proben ausgestochen werden, welche Proben in freigestochene Löcher in Probenträgern eingebracht werden, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein digitales, mikroskopisches Bild eines Schnitts eines Präparats mit einem Bild der Oberfläche dieses Präparats überlagert wird, und dass auf dem überlagerten Bild Markierungen gesetzt werden, welche die gewünschten Positionen definieren, an welchen die Proben automatisch ausgestochen und in die Löcher der Probenträger eingebracht werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sich die digitalen, mikroskopischen Bilder eines Schnitts eines Präparats aus mehreren Segmenten zusammensetzen, welche vor der Überlagerung mit dem Bild der Oberfläche dieses Präparats zusammengesetzt werden.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das digitale, mikroskopische Bild eines Schnitts eines Präparats bzw. die Segmente des digitalen, mikroskopischen Bildes entzerrt oder von Artefakten befreit wird bzw. werden.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Markierungen bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat in einer Datenbank gespeichert werden.
5. Verfahren nach Anspruch 1 oder 4, dadurch gekennzeichnet, dass für jedes Präparat mehrere digitale Schnittbilder ausgewählt werden können.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Darstellungsmaßstab der Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekenn-

zeichnet, dass die Orientierung der Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verschoben werden können.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Farbe der Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass der Durchscheingrad der Oberflächenbilder in Bezug auf die Schnittbilder verändert werden kann.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Transparenz der Schnittbilder verändert werden kann.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass eine einer Kennung für das Präparat zugeordnete Patienteninformation oder dergl. zusammen mit dem Überlagerungsbild angezeigt wird.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen gekennzeichnet, vorzugsweise fortlaufend nummeriert werden.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen selektiert und gelöscht werden können.

15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen selektiert und in ihrer Lage verändert werden können.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass den gesetzten Markierungen Kommentare zugeordnet werden.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass den gesetzten Markierungen Probenträger zur Einbringung der ausgestochenen Proben zugeordnet werden.
18. Verfahren nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass den gesetzten Markierungen bestimmte Löcher in den Probenträgern zugeordnet werden.
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Löcher für die Proben in dem Probenträger in einem Muster angeordnet werden, welches Muster durch Anordnungen der Löcher in Form eines Binärcodes gebildet ist und dadurch eine eindeutige Zuordnung der Proben zulässt.
20. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass vor dem Ausstechvorgang die Position der Oberfläche der Präparate detektiert wird und die detektierten Positionswerte zusammen mit einer Kennung für die Präparate gespeichert werden.
21. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass vor dem Freistechvorgang die Position der Oberfläche der Probenträger detektiert wird und die detektierten Positionswerte zusammen mit einer Kennung für die Probenträger gespeichert werden.
22. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Stechtiefe der Ausstech- und Freistechvorgänge ausgewählt und den Markierungen zugeordnet werden können.
23. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass nach dem Setzen der letzten Markierung am letzten Präparat der automatische Ausstechvorgang gestartet wird.
24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass der Ausstechvorgang unterbrochen und fortgesetzt werden kann.
25. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass vor dem Start des Ausstechvorganges alle Löcher in den Probenträgern freigestochen werden.

26. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass nach zumindest mehreren Ausstechvorgängen bzw. Freistechvorgängen die Ausstechnadel bzw. Freistechnadel gereinigt wird.

27. Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebepräparaten, mit zumindest einer Nadel (3) zum Ausstechen von Proben aus Präparaten (5), insbesondere aus präparierten Gewebeteilen an definierten Positionen und einer Steuereinrichtung (13) zum Steuern der Nadel (3), dadurch gekennzeichnet, dass eine Kamera (14) zur Aufnahme von Bildern der Oberfläche der Gewebeteile (5), weiters eine Einrichtung zur Überlagerung der aufgenommenen Bilder der Präparate (5) mit in einem Speicher (11) abgelegten digitalen, mikroskopischen Bildern von Schnitten dieser Präparate (5), weiters eine Anzeige (12) zur Darstellung der Überlagerungsbilder und weiters eine Einrichtung zum Setzen von Markierungen zur Festlegung der definierten Ausstechpositionen vorgesehen ist, welche mit der Steuereinrichtung (13) verbunden ist.

28. Vorrichtung nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zum Zusammensetzen der digitalen, mikroskopischen Bilder von Schnitten der Präparate (5) aus mehreren Segmenten vorgesehen ist.

29. Vorrichtung nach Anspruch 27 oder 28, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest eine Nadel (2) zum Freistechen von Löchern (34) in Probenträgern (4), in welche die ausgestochenen Gewebepräparaten eingebbracht werden, vorgesehen ist.

30. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass eine Datenbank (11) zum Speichern der Markierungen bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennungen für das Präparat (5) und allenfalls einer Patienteninformation oder dergl. vorgesehen ist.

31. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 30, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung des Darstellungsmaßstabes der Schnittbilder (9), Oberflächenbilder und bzw.

**THIS PAGE BLANK (USP 10)**

1/4

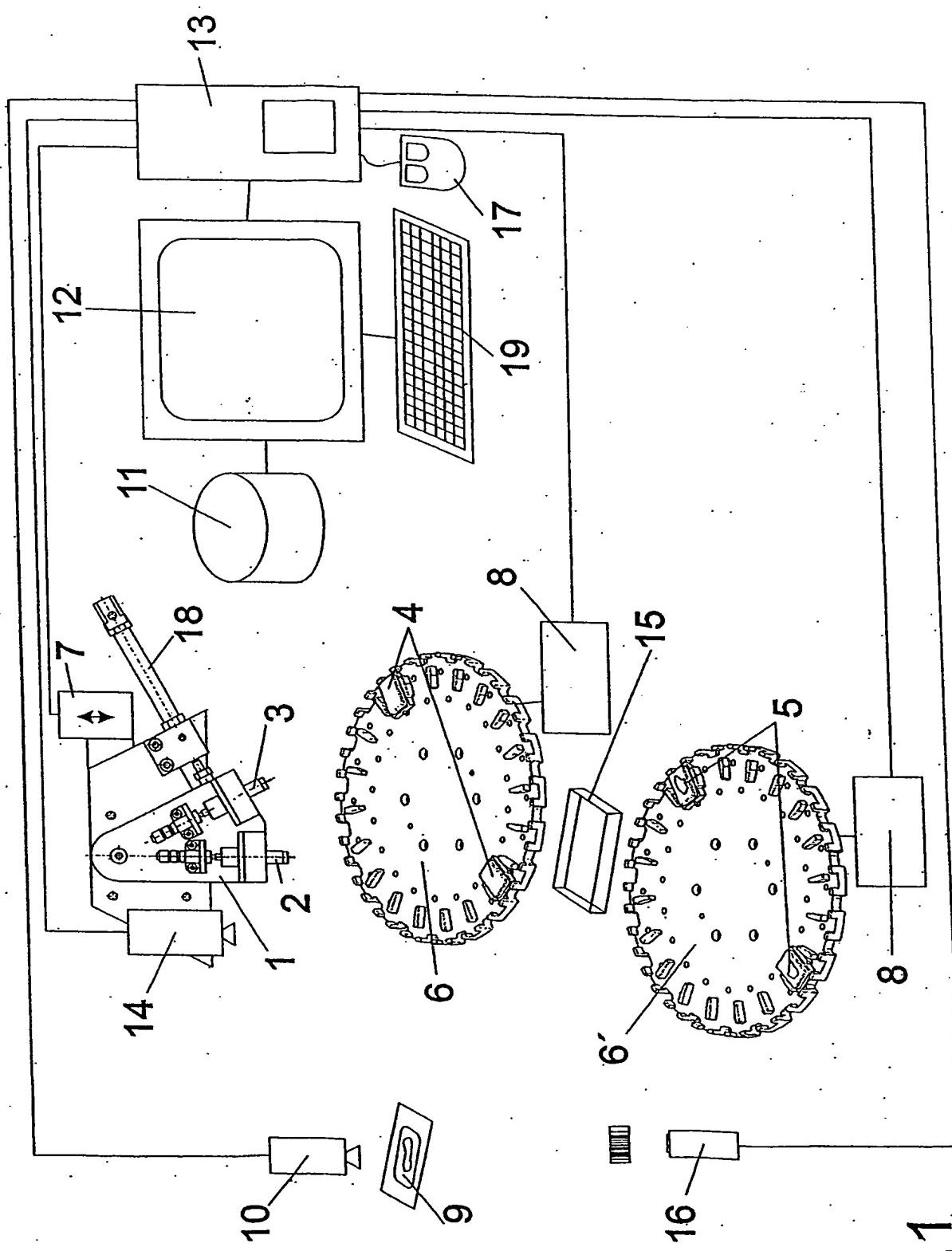


FIG. 1

JCT8 Rec'd PCT/PTO 29 APR 2005

THIS PAGE BLANK (USPTO)

3/4

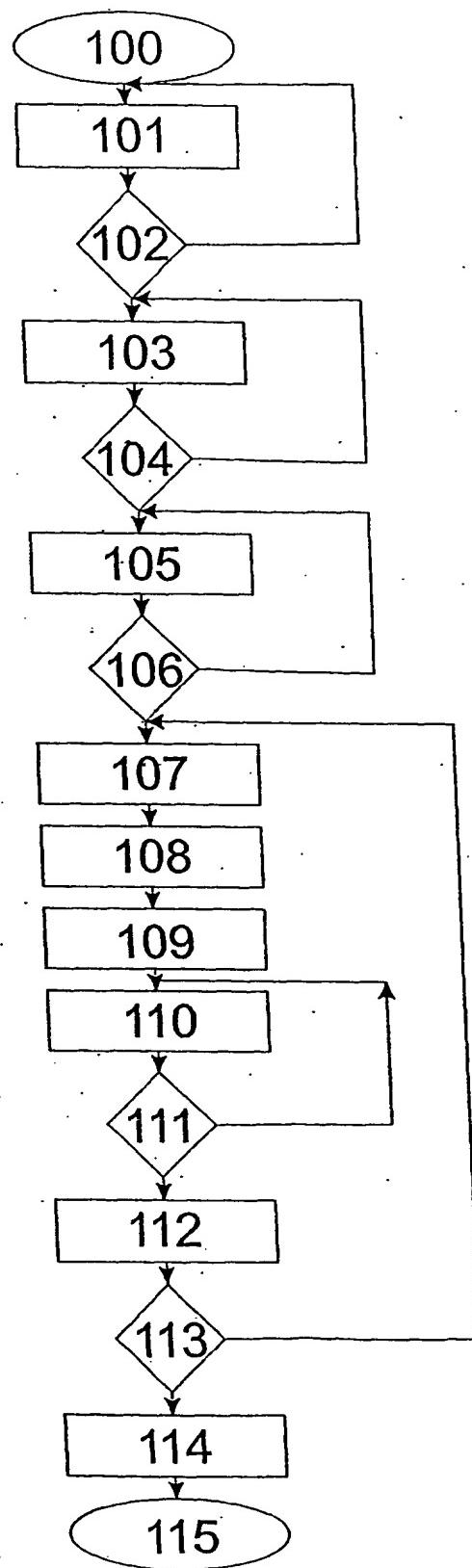


FIG.3

JC18 Rec'd PCT/PTO - 29 APR 2005

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10/533493

WO 2004/039938

PCT/AT2003/000324

4/4

20

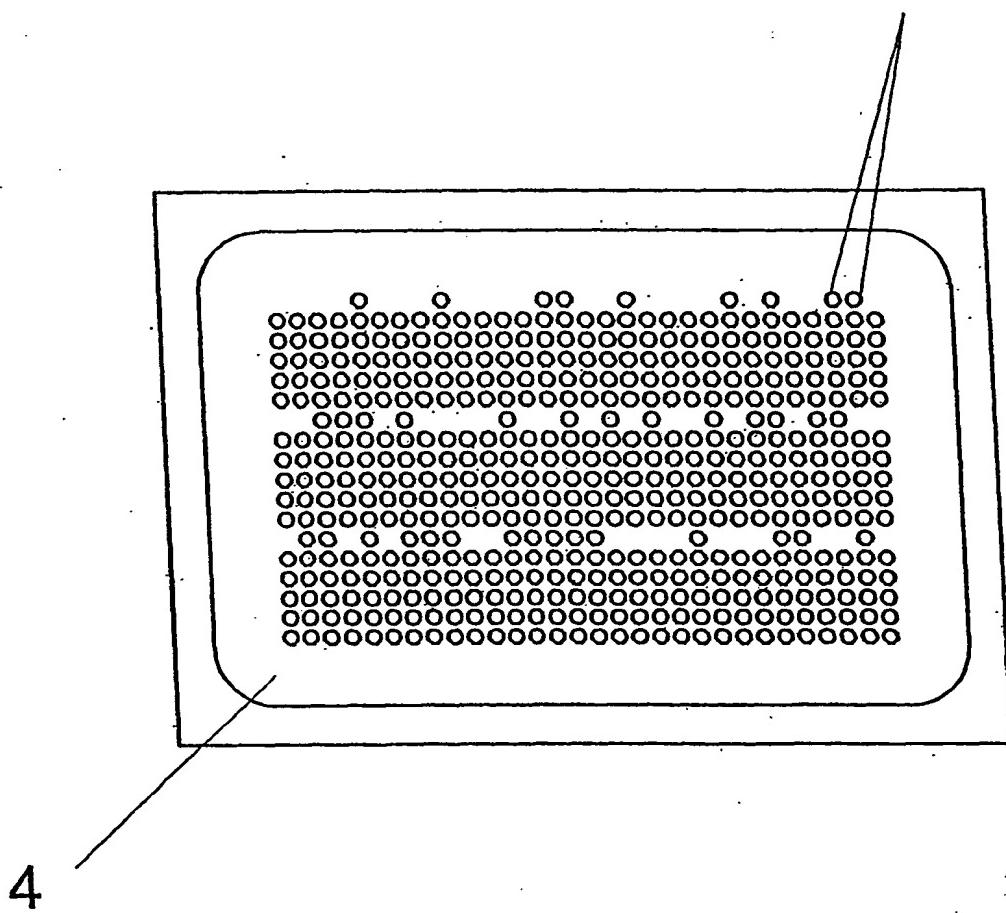


FIG. 4

U.S. PATENT & TRADEMARK OFFICE  
29 APR 2005

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**